Aus der Hals-Nasen-Ohrenklinik der Universität des Saarlandes
Homburg/Saar
Direktor: Professor Dr. med. P. Falk

Fluoreszenzmikroskopischer Histaminnachweis in den Mastzellen der menschlichen Tonsilla palatina

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der
HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

vorgelegt von
HERBERT HÜBERS

1970

Dekan: Professor Dr. med. G. Dhom
Referent: Professor Dr. Dr. K. Müsebeck

Aus der Hals-Nasen-Ohrenklinik der Universität des Saarlandes
Homburg/Saar
Direktor: Professor Dr. med. P. Falk

Fluoreszenzmikroskopischer Histaminnachweis in den Mastzellen der menschlichen Tonsilla palatina

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der
HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

vorgelegt von
HERBERT HÜBERS

1970

Dekan: Professor Dr. med. G. Dhom
Referent: Professor Dr. Dr. K. Müsebeck

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Die mündliche Promotionsprüfung wurde am 18. September 1970 abgelegt.

Inhaltsverzeichnis

		Seite
I	Einleitung	2
II	Literatur	2
III	Material und Methodik	14
IV	Ergebnisse	15
V	Diskussion	21
	Zusammenfassung	26
	Literatur	27

Herrn Prof. Dr. M. Müsebeck danke ich für die Überlassung des Themas, für die großzügige Bereitstellung des histologischen Laboratoriums und für die Ratschläge, mit denen er mir behilflich war.

Auch Herrn Dr. Mootz, der mich in die Grundlagen der histologischen Technik und Mikrophotographie einführte und mir hierin stets mit Rat und Tat behilflich war, bin ich zu großem Dank verpflichtet.

I Einleitung

Als PAUL EHRLICH (1877) die Mastzelle zum ersten Mal beschrieb, definierte er diese als eine Zelle, die metachromatische Granula enthält. Diese Formulierung hat auch heute noch im wesentlichen ihre Gültigkeit. So gibt SELYE (1965) nach Durchsicht von 8 500 Arbeiten folgende Definition: "Mastzellen kommen im Bindegewebe vor und enthalten cytoplasmatische Granula, die sich unter gewöhnlichen histologischen Bedingungen metachromatisch färben".

Trotz dieser relativ einfachen Charakterisierung, die zudem noch von morphologischen und färberischen Kriterien ausgeht, schreibt man der Gewebsmastzelle eine Vielfalt von Funktionen zu. Dies geht auch schon aus ihrer Namensgebung hervor, die von basophilem Gewebsgranulocyt, Heparinocyt, neurohormonaler Zelle bis zu Histaminocyt reicht. Daraus ist zu entnehmen, daß das Histamin unter anderem eine entscheidende Stellung im Mastzellenstoffwechsel hat.

Durch chemisch-analytische Untersuchungen ist die Rolle des Histamins bei allergischen Vorgängen unumstritten und seine Relation zu den Mastzellen erwiesen (RILEY und WEST, 1953). Dennoch war es lange Zeit nicht möglich, das Histamin in den Mastzellen morphologisch darzustellen. So ist der histochemische Histaminnachweis nach SCHAUER und WERLE (1958) in vielen Geweben nicht reproduzierbar. Der Nachweis von LAGUNOFF, PHILIPPS und BENDITT (1961) ist wegen seiner Unspezifität unzulänglich.

Der von SHELLEY, ÖHMAN und PARNES (1968) entwickelte fluoreszenzmikroskopische Histaminnachweis wird heute als spezifisch, sensibel, gut durchführbar und sehr zuverlässig betrachtet. Wir bedienten uns daher dieser Methode, um das Histamin in den Mastzellen der menschlichen Tonsilla palatina nachzuweisen, zumal derartige histochemische Untersuchungen an diesem lymphoepithelialen Organ bisher noch nicht durchgeführt wurden.

II Literatur

Während die Mehrzahl der tierischen und menschlichen Organe auf ihren Mastzellengehalt hin untersucht wurden, liegen bisher in der Literatur nur spärliche Angaben über das Vorkommen von Mastzellen in menschlichen Tonsillen vor.

So berichtet MISKOLCZY-FODOR (1950) über Mastzellen im normalen und pathologisch veränderten Tonsillengewebe. Zur Darstellung der Mastzellen wandte der Autor die konventionelle Färbemethode nach GIEMSA an. Dabei lassen jedoch die metachromatischen Granula keine direkte Aussage über den Histamingehalt zu.

Bezüglich der Verteilung der Mastzellen in der Gaumenmandel erhebt der Autor folgende Befunde: Sie liegen im bindegewebigen Stroma, in der Kapsel und im faserreichen subepithelialen Gewebe. Wenige Mastzellen sind im interfollikulären Raum zu finden, der Krypteninhalt enthält keine Mastzellen, dagegen liegen sie in enger topographischer Beziehung zu den Lymphgefäßen. Der negative Befund in den Keimzentren wird mit dem Fehlen von Lymphgefäßen erklärt.

Die morphologische Gestalt der Mastzelle in der Tonsille ist durch die Anpassung an das sie umgebende Gewebe bedingt: Im Lymphretikulum sind die Mastzellen polymorph geformt und haben einen rundlichen Kern; zwischen den Bindegewebsfibrillen nehmen sowohl die äußere Gestalt wie der Kern eine mehr längliche Form an. Während die Mastzellen

im Lymphretikulum feinere Granula besitzen, sind diejenigen Granula der Mastzellen zwischen den Bindegewebsfibrillen plump. Die Zellgrenzen lassen sich oft nur an der Verteilung der metachromatischen Granula erkennen.

Bei der akuten Tonsillitis fand MISKOLCZY-FODOR in Übereinstimmung mit anderen Autoren die Zahl der Mastzellen verringert, bei der chronischen Tonsillitis stark vermehrt. Die Anwesenheit von Mastzellen ist nicht vom Alter und der Größe des Organs abhängig, ebensowenig wie ihre Form und Größe.

Eine weitere Beschreibung der Mastzellen in menschlichen Tonsillen gibt DRABE (1960). In Tonsillenabschnitten mit regelrechter Struktur findet er nur spärlich spindelförmige Mastzellen mit metachromatischen Granula so zum Beispiel im subepithelialen Bindegewebe, in den Trabekeln und im Kapselbereich. Während Mastzellen im retikulierten Kryptenepithel nur selten und im Oberflächenepithel fast nie vorkommen, fehlen sie im Krypteninhalt gänzlich.

Ist die Bindegewebszone als Zeichen einer chronischen Tonsillitis verbreitert, so sind die Mastzellen vermehrt; ihre Form ist hier kugelig oder ovalär. Sie enthalten in dem wenig ausgebildeten Cytoplasma nur spärlich Granula. Die Mastzellen liegen in Gefäßnähe oder schmiegen sich der Gefäßwand an. Daneben finden sich aber auch Zellen von mehr spindelförmiger oder geschweifter Form, die sich den Bindegewebsfibrillen anpassen und ein umfangreiches Cytoplasma mit reichlich metachromatischen Granula besitzen.

Im lymphatischen Grundgewebe sind nur wenig Mastzellen zu beobachten. Diese haben eine enge Beziehung zu kleineren Gefäßen. Die Follikel sind stets frei von Mastzellen. Schließlich kommen in den Trabekeln und zwischen den im Kapselbereich liegenden Muskelfasern zahlreiche kugelige oder spindelförmige Mastzellen vor.

Eine erste Untersuchung der Tonsillen auf ihren Histamingehalt ist von LORENZ, HEITLAND, WERLE, SCHAUER und GASTPAR (1968) durchgeführt worden. Die Autoren bedienen sich der spektrofluorometrischen Methode nach SHORE, BURKHALTER und COHN (1959) um das Histamin qualitativ und quantitativ zu bestimmen. Zur Feststellung der Mastzellendichte des Organs färben sie mit Bleiacetat fixierte Gewebsschnitte mit Toluidinblau an. Um die Relation zwischen dem Histamin, das an die Mastzelle gebunden ist und dem in Nichtmastzellspeichern vorliegenden Histamin bestimmen zu können, führen sie Parallelversuche mit dem Histaminliberator Compound 48/80 durch. Diese Versuche ergeben folgende Befunde:
Der Histamingehalt der Tonsilla palatina ist verglichen mit anderen Organen der jeweiligen Spezies sehr hoch. So fanden die Autoren beim Menschen 10,7 µg, beim Hund 53,5 µg, beim Schwein 73,5 µg und beim Rind 31,3 µg Histamin bezogen auf 1 g Frischgewebe.

Nach Vorbehandlung des Organs mit dem Histaminliberator Compound 48/80 sinkt der Histamingehalt der untersuchten

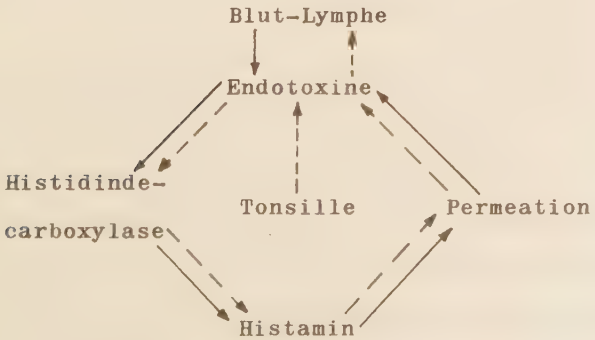
Organe (Hund) bei der Glandula submandibularis von 26,3 µg/g auf 16,2 µg/g, bei der Glandula parotis von 7,5 auf 3,8 µg/g und bei der Tonsilla palatina von 53,5 auf 32,8 µg/g. Während die Werte bei den Speicheldrüsen auf Werte bis zu 50 % abfallen, ist die Differenz bei der Gaumenmandel nicht so signifikant.

Angeregt durch Versuche von LORENZ, HEITLAND, WERLE, SCHAUER und GASTPAR (1968) führte WILCKE (1969) eine vergleichende Untersuchung bei der Rachenmandel durch. Er bediente sich einer papierchromatographischen Methode, um den Histamingehalt dieses lymphatischen Organs zu bestimmen. Die gefundene Histaminkonzentration liegt bedeutend niedriger als die der Tonsilla palatina. So ermittelt der Autor durchschnittliche Werte von 4,4 µg/g Frischgewebe. Dieses Ergebnis veranlaßt ihn zu der Annahme, daß die Histaminfreisetzung bei anaphylaktischen Reaktionen und im Fokalgeschehen auch bei der Tonsilla pharyngea von Bedeutung ist.

Mit der Speicherung, der Bildung und dem Umsatz von Histamin in den menschlichen Tonsillen befassen sich GASTPAR und LORENZ (1968), die den spezifisch hohen Histamingehalt der Gaumenmandel bestätigen. Sie finden, daß der prozentuale Anteil von Mastzellhistamin und dem Histamin der Nichtmastzellspeicher für die Tonsilla palatina nicht genau anzugeben ist. Die Mastzelldichte der Gaumenmandel ist bei Entzündungsvorgängen relativ hoch, was auf einen lebhaften Histaminumsatz in diesem Organ schließen

läßt. Auch diskutieren sie die Möglichkeit, daß die von MÜSEBECK, BOOZ und MOOTZ (1966) beschriebenen 5-HT Zellen Histamin enthalten.

GASPAR und LORENZ (1968) weisen die an der Histaminumsetzung beteiligten Fermente Diaminooxydase und Histidindecarboxylase nach. Letztere kann durch Endotoxine aktiviert werden, wobei es zu einer Histaminneubildung kommt und ein Mechanismus ausgelöst wird, der über eine erhöhte Permeation zu einer beschleunigten Eliminierung neuer Endotoxine aus der Blutbahn in die Tonsille führt. Auch beim intratonsillären Entzündungsherd lösen die Endotoxine eine Histaminneubildung aus, die aber in umgekehrter Richtung eine Ausschwemmung der Noxen von der Tonsille in die Blut- und Lymphbahn bewirkt. Für die Mediatorfunktion des Histamins beim Endotoxinaustausch zwischen Blut- und Lymphbahn sowie dem Tonsillengewebe geben die Autoren folgendes Schema:



Mit der Bedeutung der Gewebsmastzelle im Entzündungsvorgang befaßt sich KELLER (1967). Er betont, daß man trotz einer Fülle von erarbeiteten Einzeldaten weit davon entfernt ist, eine klare Konzeption über die funktionelle Bedeutung der Mastzelle zu besitzen. Der Autor beschreibt das Verhalten der Mastzelle bei der Entzündung folgendermaßen: Auf einen intensiven Reiz hin (Liberatoren, Anaphylaxie) kommt es zu einer Degranulation der Zelle. Dieser Vorgang läßt sich in verschiedene Phasen unterteilen: Rasche Vergrößerung der Granula, Platzen der Zelle und Austritt ihrer Inhaltstoffe und zum Teil auch ganzer Granula. Neben diesem akuten Reaktionstyp gibt es auch einen spontanen Zerfall, der sich über Monate hinziehen kann.

Bei der akuten Entzündung kommt es regelmäßig zu einer Verminderung der Mastzellen, die durch einen raschen Zerfall der Zellen im Bereich der Entzündung bedingt ist, während bei der chronischen Entzündung, die mit einer Proliferation des Bindegewebes verbunden ist, eine Vermehrung der Mastzellen auftritt.

Biochemisch können in den Mastzellen eine Reihe hochwirksamer Verbindungen nachgewiesen werden: Heparin, Histamin, Serotonin, basisches Protein, ATPasen, Peptidase (Chymotrypsin, Trypsin) und alkalische Phosphatase. Besonders hoch ist dabei der Histamingehalt, der vermutlich in Form eines ternären Heparin - Zink- Histaminkomplexes vorliegt. An dieser Stelle weist der Autor auf ein nicht an die

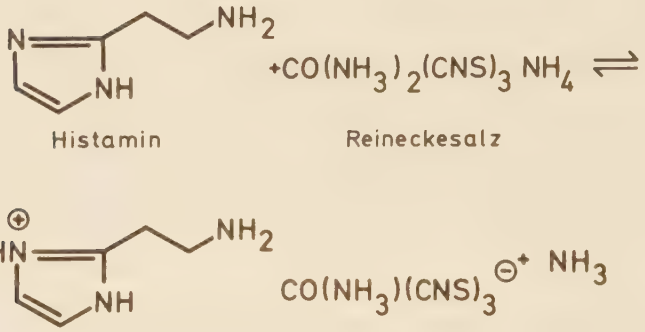
Mastzelle gebundenes histaminbildendes System hin, das adaptiv und schnell große Mengen Histamin ausschütten kann (z.B. bei Streßsituationen), während die Histaminfreisetzung aus der Mastzelle langsam vor sich geht.

Bei der akuten Entzündung - ausgelöst durch chemische, toxische, immunologische oder thermische Reize - kommt es zu einer Abnahme der Mastzelldichte im Bereich der Entzündung, wobei die Granula frei im Gewebe liegen; gleichzeitig tritt ein weitgehender Verlust der an die Granula gebundenen Aktivitäten auf. Zunächst werden Histamin und Serotonin freigesetzt, später kommt es zur Abnahme der Fermentaktivitäten; nur Heparin bleibt zum Teil an die Granula gebunden.

Die Exsudation bei der akuten Entzündung wird durch lokal wirkende vasoaktive Stoffe ausgelöst. Neben Kininen und Peptidasen sind daran auch das Histamin der Mastzelle, das durch Steigerung der Permeabilität von Kapillar- und Zellmembran eine ödembildende Wirkung besitzt, ferner Serotonin und schließlich adaptives Histamin beteiligt, das durch die nicht an die Mastzelle gebundene Histidindecarboxylase freigesetzt wird.

Trotz dieser bekannten Zusammenhänge sind morphologisch-histochemische Histaminnachweise spärlich. SCHAUER und WERLE (1959) gehen bei ihrer histochemischen Darstellung des Histamins in den Mastzellen von der Vermutung aus, daß das Histamin an die SO_3 H-Gruppen des Heparins der Granula

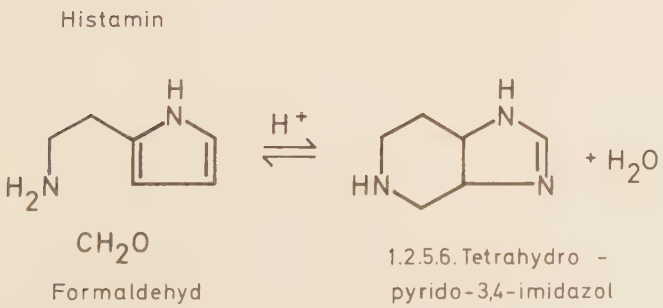
gebunden ist. Sie fällen daher das Histamin in Reinecke-salzlösung aus, wobei sich rhomboide Kristalle bilden. Unspezifische Reaktionen durch Protamin, Histidin und Serotonin halten sie für möglich. Sie geben folgende chemische Reaktion an:



Die Versuche von SCHAUER und WERLE beschränken sich im wesentlichen auf das histaminreiche Rattenmesenterium, von dem sie Häutchenpräparate anfertigen und mit Reinecke-salzlösung behandeln. Im ungefärbten Präparat sind die Mastzellengranula bereits deutlich erkennbar, die Kristalle leuchten im Dunkelfeld hell auf. Um diese Kristalle färberisch darzustellen, führen sie eine Diazokupplungsreaktion durch, wobei es zu einer hellroten Färbung der histamin-

haltigen Mastzellengranula auf schwachgelbem Untergrund kommt. Schließlich lassen sich die mit Reineckesalz behandelten Präparate mit dem elektronegativen Eosin anfärben; die Granula erscheinen dann deutlich braunrot.

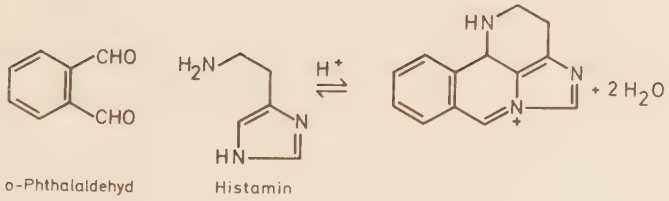
Eine weitere histochemische Methode wird von LAGUNOFF, PHILLIPS und BENDITT (1961) angegeben. Sie bedienen sich der Gefriertrocknung um eine Diffusion des stark wasserlöslichen Histamins aus der Zelle zu verhindern. Anschließend bedampfen sie die Schnitte mit Formaldehyd, wobei ein wasserunlösliches Kondensationsprodukt (1.2. 5.6. Tetrahydro-pyrido-3,4 imidazol) entsteht. Diese Reaktion verläuft nach folgender Gleichung:



Diazotierung mit p-Bromanilin ermöglicht die Sichtbarmachung im UV-Licht (Orange auf gelbem Untergrund). Die Autoren fanden positive Reaktionen beim Menschen, bei der Ratte, bei der Maus, aber nicht beim Hund. Der Histaminnachweis kann unspezifisch sein, wenn die Serotoninkonzentration 1/10 die des Histamins übersteigt. Im Gegensatz zu diesen beiden histochemischen Histaminnachweisen besitzt die Methode von JUHLIN und SHELLEY (1966) wegen ihrer hohen Spezifität entscheidende Vorteile. Dieser Nachweis beruht auf den Untersuchungen von SHORE, BURKHALTER und COHN (1959).

Die letztgenannten Autoren entwickelten einen fluorometrischen Histaminnachweis, der darauf basiert, daß o-Phthalaldehyd mit Histamin ein stabiles Kondensationsprodukt bildet, das im Fluoreszenzspektrographen bei $\lambda = 450 m\mu$ direkt gemessen werden kann. Eine Diazotierung des Kondensationsproduktes wie in den vorher beschriebenen Methoden kann entfallen, was die Durchführbarkeit des Nachweises wesentlich vereinfacht. Für die hohe Sensibilität spricht, daß die Fluoreszenzintensität zwischen 0,005 und 0,5 µg/l der Konzentration des Histamins proportional ist. Die Spezifität der Methode wird durch die Autoren dadurch beweisen, daß sie mit Histaminderivaten Parallelversuche durchführen, die in keinem Falle einen positiven Histaminnachweis ergeben. So werden u.a. durchgetestet: Acetyliertes, methyliertes, alkyliertes, carboxyliertes und desaminiertes Histamin. Auch das in

den vorher beschriebenen Versuchen störende Serotonin gibt mit o-Phthalaldehyd eine negative Reaktion. Die Reaktion von Histamin mit o-Phthalaldehyd verläuft nach folgender Gleichung:



Den Chemismus dieser spektrofluorometrischen Methode übertragen SHELLEY, ÖHMAN und PARNES (1968) auf den von ihnen entwickelten fluoreszenzmikroskopischen Histaminnachweis. Sie bedienen sich der Gefriertrocknung, die eine Histamindiffusion aus der Zelle verhindert und die Anfertigung dünnerer und artefaktfreier Schnitte erlaubt. Die wasserfreien Gewebsblöckchen können darüberhinaus längere Zeit aufbewahrt werden.

III Material und Methodik

Untersucht wurden 24 menschliche Tonsillen (Operationsmaterial). Folgende histologische Färbemethoden kamen zur Anwendung:

1. Hämatoxylin-Eosin Färbung,
2. Toluidinblaufärbung,
3. Fluoreszenzmikroskopischer Histaminnachweis in den Mastzellen nach SHELLEY, ÖHMAN und PARNES (1968). Hierbei wird das Tonsillengewebe wie folgt behandelt:

Das noch lebensfrische Gewebe wird in Gewebsblöckchen mit einer maximalen Kantenlänge von 3 mm zerlegt und in iso-Pentan, das mit Kohlensäureschnee auf -70° C heruntergekühlt wurde, eingefroren. Einbringen des Gewebes in die Gefriertrocknungsanlage (alpha-1-Anlage der Fa. Christ), die mit Hilfe eines Peltier-Elementes schon auf -40° C vorgekühlt wurde. Folgende Trocknungszeiten halten wir für ausreichend: 6 Stunden bei -45° C, 12 Stunden bei -25° C und 6 Stunden bei Zimmertemperatur. Anschließend Einbettung des Gewebes unter Vakuum in entgastes Paraffin. Anfertigung von 10 µ dicken Schnitten, die auf sorgfältig gereinigten Objektträgern bei 60° C auf einer Wärmeplatte aufgezogen werden. Nach Erkalten des Paraffins kommen die Objektträger in eine wasserdampfgesättigte Kammer und werden für 4 Minuten mit 1 %igem o-Phthalaldehyd in Xylol überschichtet.

Eindecken in Tetrahydrofurfuryl-Alkohol.

Fluoreszenzmikroskopische Auswertung mit dem LEITZ-Mikroskop ORTHOPLAN mit Fluoreszenzeinrichtung und automatischer Mikroskopkamera ORTHOMAT: Erregerfilter UG 1, Kantenfilter K 430. Bei dieser Einstellung fluoreszieren die histaminhaltigen Mastzellen intensiv gelb auf blauem Untergrund.

IV Ergebnisse

Histamin läßt sich fluoreszenzmikroskopisch in der menschlichen Tonsille mit der von uns angewandten Methode nur in den Mastzellen nachweisen. Diese finden sich in der Tonsilla palatina

1. unter dem Oberflächenepithel
2. in den Trabekeln
3. im perifollikulären Gewebe
4. in der Kapsel
5. selten im Oberflächen- und Kryptenepithel.

Zu 1. Subepithelial mit zum Teil enger Beziehung zur untersten Lage des unverhornten mehrschichtigen Plattenepithels finden sich zahlreiche runde bis ovale Mastzellen (Abb. 1). Diese fluoreszieren intensiv

gelb und heben sich gut von dem schwach-bläulich fluoreszierenden Oberflächenepithel ab. Die feinen Granula liegen sehr dicht im Cytoplasma und überdecken meist den länglich ovalen Kern (Abb. 2). Extrazellulär gelegene Granula sowie Mastzellen, die kaum Granula enthalten (Ghostcells) lassen sich nur ganz selten beobachten.

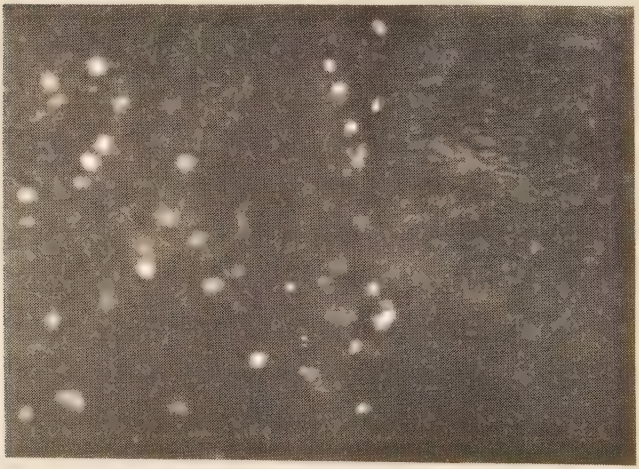
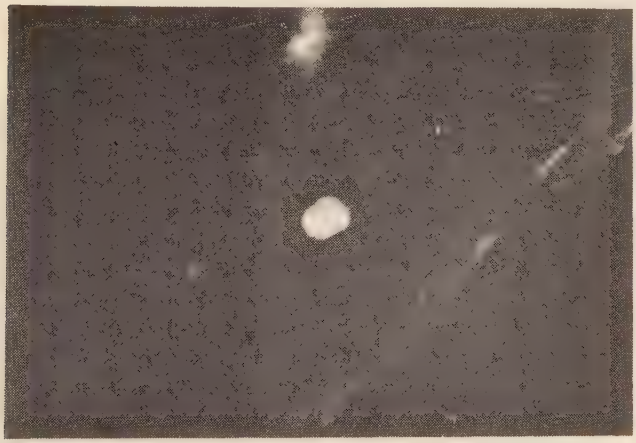


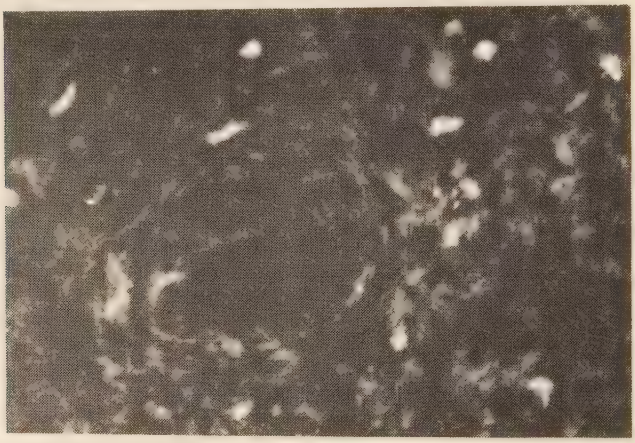
Abb. 1 Menschliche Tonsilla palatina; unter dem mehrschichtigen Plattenepithel (rechts) liegen intensiv gelb fluoreszierende Mastzellen. Fluoreszenzmikroskopischer Histaminnachweis. Vergr. 100 x

Abb. 2 Mastzelle bei stärkerer Vergrößerung. Zahlreiche histaminhaltige Granula im Cytoplasma uberdecken den Kern. Von links unten nach rechts oben verläuft eine Kapillare. Vergr. 400 x



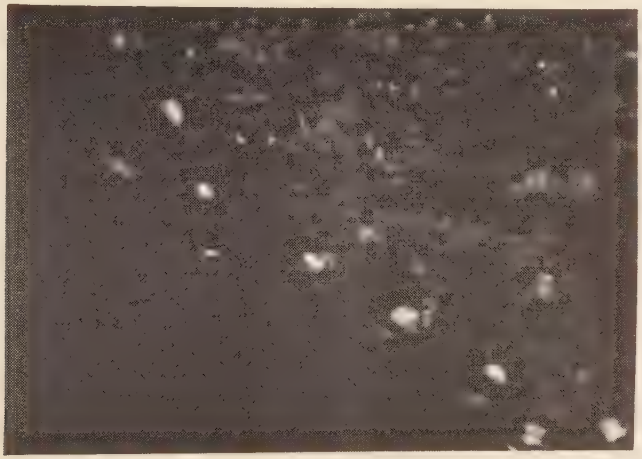
Zu 2. Trabekulär liegen die Mastzellen in enger Beziehung zu den hier verlaufenden Blutgefäßen und finden sich meist in länglicher Form in der Adventitia. Mehr rundliche reife Formen liegen weiter von den Gefäßen entfernt (Abb. 3).Die intensiv gelb fluoreszierenden Mastzellen heben sich deutlich von dem schwach bläulichen Untergrund ab, wobei die Lumina der Blutgefäße sich als schwarze Bezirke darstellen. Die Elastica externa und interna größerer Trabekelarterien ist als gelbgrunliche Wellenlinie zu erkennen. Auch hier finden sich ab und zu neben den Mastzellen gelegene gelbfluoreszierende gröbere Granula

Abb. 3 Menschliche Gaumenmandel. Längliche Mastzellen liegen in der Adventitia der Trabekelgefäße, deren Lumen sich als schwarzer Bezirk darstellt. Runde Formen sind von der Gefäßwand abgerückt. Die Struktur des Trabekelgewebes ist deutlich zu erkennen. Fluoreszenzmikroskopischer Histaminnachweis. Vergr. 250 x



Zu 3. Perifollikulär finden sich histaminhaltige Mastzellen, die sich deutlich von den schwach gelb-bläulich fluoreszierenden Lymphocyten der Sekundärfollikel abheben. Dabei liegen die Mastzellen in enger topographischer Beziehung zu dem Lymphocytenmantel der Follikel. In den Follikeln selbst können keine Mastzellen nachgewiesen werden (Abb. 4). Wie die Abb. 4 ebenfalls veranschaulicht, bleibt die Struktur des Tonsillengewebes vorzüglich erhalten, so daß alle Gewebsstrukturen deutlich zu erkennen sind.

Abb. 4 Tonsilla palatina, Mensch. Perfollikulär gelegene runde bis ovale Mastzellen. Keine Histaminfluoreszenz innerhalb der Sekundärfollikel (rechts). Fluoreszenzmikroskopischer Histaminnachweis. Vergr. 250 x



Zu 4. Im Bereich der bindegewebigen Tonsillenkapsel liegen die Mastzellen besonders in der Umgebung der Blutgefäße. Sie besitzen meist eine längliche bis ovale Form und weisen zum Teil Fortsätze auf, die bis zwischen die Bindegewebsfasern reichen.

Zu. 5. Im Oberflächen- und Kryptenepithel können wir mit der von uns angewandten fluoreszenzmikroskopischen Methode nur in ganz seltenen Fällen fluoreszierende Mastzellen nachweisen. Dies steht im Einklang mit den von uns furchgefuhrten Toluidinblau-Kontrollfärbungen.

Eine Übersicht uber das Verteilungsmuster der Mastzellen in den menschlichen Gaumenmandeln gibt die folgende Tabelle wieder:

Vorkommen	Häufigkeit	Form der Mastzelle
subepithelial	+ + +	rund bis oval z. T. spindelförmig
trabekulär	+ +	rund bis spindel- förmig
perifollikulär	+ +	rund bis oval
Kapsel	+	polymorph
Oberflächen- und Kryptenepithel	+	rund bis oval
Sekundärfollikel	-	-

+ + + große Mastzellendichte

- keine Mastzellen

V Diskussion

Trotz zahlreicher Untersuchungen über das Tonsillengewebe bleiben viele Probleme über Morphologie und Funktion der Gaumenmandel ungeklärt. Ebensowenig ist die Rolle des Histamins in den Mastzellen der Tonsille in allen Einzelheiten bekannt.

So betont FALK (1963) in einem kritischen Rückblick auf seine Abhandlungen über Physiologie und Pathophysiologie und insbesondere in den Kapiteln über die endokrinen Wechselwirkungen der Tonsilla palatina, daß trotz fast unübersehbarer Forschungsergebnisse noch viele Fragen offenstehn. Die Gaumenmandel nehme zwar eine gewisse Sonderstellung innerhalb der lymphoepithelialen sowie der übrigen lymphatischen Organe ein, es spiele sich in den Tonsillen aber kein wesentlich anderer physiologischer Vorgang als im übrigen lymphatischen Gewebe ab. Man kann somit nicht von einer Physiologie der Tonsilla palatina sprechen, da der Tonsille keine spezifische Funktion zugeschrieben werden kann. Ebenfalls ist die immunbiologische Funktion des Tonsillengewebes nach MEYER ZUM GOTTESBERGE und KOBURG (1967) in vielen Punkten ungeklärt.

Auch über die Morphologie und Physiologie der Mastzelle herrscht trotz intensiver Forschungsarbeit noch keine

völlige Klarheit. Zahlreiche Untersuchungen über die Funktion der Mastzellen sind seit deren Entdeckung durch Paul EHRLICH (1877) durchgeführt worden; dies geht aus der Monographie von SELYE (1965) über die Mastzelle hervor, in der über 8000 Publikationen zusammengefaßt werden. So deuten auch die vielen Synonyma, die der Mastzelle gegeben wurden (z.B. Heparinocyt, neurohormonale Zelle, Histamonocyt) auf die unterschiedlichsten Funktionen hin, die dieser Zelle zugeschrieben werden. Selbst die derzeitig gebräuchliche Definition "Mastzellen kommen im Bindegewebe vor und enthalten zytoplasmatische Granula, die sich unter gewöhnlichen histologischen Bedingungen metachromatisch färben" (SELYE, 1965) ist unbefriedigend. Denn einerseits sehen wir immer wieder Histiocyten oder Fibroblasten, die metachromatische Granula phagocytiert haben und andererseits gibt es physiologische und pathologische Zustände, bei denen die Mastzellen ihre Granula ausstoßen (Ghostcells), jedoch weiterhin regenerationsfähig bleiben (NIEBAUER, 1968).

Spezielle Untersuchungen an der menschlichen Tonsilla palatina auf ihren Mastzellengehalt hin liegen nur spärlich vor. So fanden MISKOLCZY-FODOR (1950), DRABE (1961), LEHNER (1924) und STÄMMLER (1925) trotz verschiedener Untersuchungsmethoden übereinstimmend Mastzellen im subepithelialen Gewebe, in der Kapsel sowie im Oberflächen- und Kryptenepithel. Auch wir konnten diese Verteilung durch den spezifischen fluoreszenzmikroskopischen Histaminnachweis

(SHELLEY, ÖHMAN und PARNES, 1968) bestätigen. Das Fehlen von Mastzellen in den Keimzentren wird auch durch elektronenmikroskopische Untersuchungen von MÜLLER-HERMELINK und CAESAR (1968) erhärtet.

Während das Vorkommen von Histamin in den Mastzellen der menschlichen Gaumenmandel durch unsere Untersuchungen gesichert werden konnte, bedarf die Wirkung des Histamins auf das Tonsillengewebe weiterer Abklärung. Die Rolle des Histamins beim anaphylaktischen und entzündlichen Geschehen ist heute unumstritten. Da die Tonsille kein Manifestationsorgan der Anaphylaxie ist, kann eine Diskussion hierüber entfallen. Die Rolle des Histamins bei entzündlichen Prozessen in der Tonsille wird heute dahingehend gedeutet, daß es durch Steigerung der Gefäß- und Zellmembranpermeabilität die Eliminierung von Endotoxinen herbeiführt (GASTPAR und LORENZ, 1968).

Die spärlichen Untersuchungsergebnisse sowie deren Interpretation bezüglich der Rolle des Histamins in der Tonsilla palatina sind nicht zuletzt auf unzugängliche histochemische Histaminnachweismethoden zuruckzuführen.

Der von SCHAUER und WERLE (1959) angegebene Nachweis ist einmal nur dort reproduzierbar, wo Häutchenpräparate angefertigt werden können, zum anderen fällt das Reineckesalz nicht nur Histamin sondern auch Protamin, Histidin und Serotonin. Da die Konzentration des Serotonins im Gewebe

allgemein höher ist, könnte diese Methode eher als Serotoninnachweis angewandt werden. Schließlich besitzt dieser Histaminnachweis, der neben der Fällung als Reineckat noch einer Diazotierung zur Darstellung des Reaktionsproduktes erfordert, zu viele unspezifische Nebenreaktionen. Die Autoren selbst wandten diese Methode in ihren späteren Versuchen nicht mehr an.

Die Einführung der Gefriertrocknung beim Histaminnachweis ist das Verdienst von LAGUNOFF, PHILLIPS und BENDITT (1961). Hierbei wird eine Diffusion des stark wasserlöslichen Histamins aus der Mastzelle zwar verhindert, doch führt die Bedampfung mit Formaldehyd sowie die anschließende Diazotierung mit p-Bromanilin nicht zu spezifischen Kondensationsprodukten. So wird z.B. durch die Formaldehydbedampfung eher Serotonin dargestellt. Ungeklärt ist auch, weshalb der Nachweis bei Ratte und Mensch positiv, beim Hund aber negativ ausfällt.

Gegenüber diesen beiden Methoden besitzt der Histaminnachweis von SHELLEY, ÖHMAN und PARNES (1968) entscheidende Vorteile. Ausgehend von der spektrofluorometrischen Methode von SHORE, BURKHALTER und COHN (1968) wurde der Nachweis zunächst bei Gefrierschnitten angewandt (JUHLIN und SHELLEY, 1966). Dieser fluoreszenzmikroskopische Histaminnachweis im Gewebe besitzt jedoch trotz hoher Spezifität dadurch große Nachteile, daß relativ dicke Schnitte untersucht werden mußten und daß die zeitliche Auswertung, bedingt

durch die starke Wasserlöslichkeit des Histamins, begrenzt war.

SHELLEY, ÜHMAN und PARNES (1968) modifizierten diesen fluoreszenzmikroskopischen Histaminnachweis dahingehend, daß sie die Gefriertrocknung in die Methode einführten, so daß sowohl die Nachteile der Wasserlöslichkeit des Histamins als auch die der Gewebsbearbeitung wegfielen. Diese hoch spezifische, sehr sensible, gut durchführbare und reproduzierbare Methode wandten wir erstmals zur Darstellung des Histamins in den Mastzellen der menschlichen Tonsilla palatina an.

Die Interpretation der dabei erarbeiteten Ergebnisse fällt schwer und muß wohl bezüglich des Histamins in einer Funktion bei der Eliminierung der Endotoxine gesehen werden. Darüberhinaus spricht das gehäufte Vorkommen histaminhaltiger Mastzellen in bindegewebigen Umbaubezirken für eine Beteiligung beim Ab- bzw. Umbau lymphatischen Parenchyms zu Narbengewebe.

Zusammenfassung

Mit Hilfe des spezifischen fluoreszenzmikroskopischen Histaminnachweises nach SHELLEY, ÖHMAN und PARNES (1968) konnte in der menschlichen Tonsilla palatina das Histamin erstmals histochemisch in den Mastzellen nachgewiesen werden. Diese intensiv gelb auf blauem Untergrund fluoreszierenden Zellen finden sich in der Gaumenmandel in folgender Verteilung: Subepithelial, in den Trabekeln, perifollikulär, in der Kapsel und nur selten im Oberflächen- und Kryptenepithel; in den Sekundärfollikeln dagegen fiel der Histaminnachweis stets negativ aus. Das Histamin der Nichtmastzellspeicher wird mit dieser Methode nicht erfaßt. Die Wirkung des Histamins auf das Tonsillengewebe wird in Übereinstimmung mit GASTPAR und LORENZ (1968) in einer Eliminierung der Endotoxine gesehen. Dieser Vorgang beruht wahrscheinlich auf der Steigerung der Gefäß- und Zellpermeabilität durch Histamin.

Literatur

DRABE, J.: Über das Vorkommen und die Bedeutung der Gewebsmastzellen in menschlichen Gaumenmandeln. Arch.klin.exp.Ohr.-Nas.u.-Kehlk.Heilk. 177 (1961) 174-186.

FALK, P. : Entwicklungsgeschichte, Anatomie, Mißbildungen, Physiologie und Pathophysiologie des Rachens (einschließlich Tonsillen). HNO-Handbuch Bd.II/Teil 1 (1963) BERENDES, J., LINK, R. und ZÖLLNER, F. (Herausgeb.) Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart.

GASTPAR, H. und W. LORENZ : Speicherung, Bildung und Umsatz von Histamin in Speicheldrüsen und Tonsillen. Arch.klin.exp.Ohr.-Nas.u.-Kehlk.Heilk. 191 (1968) 715-719.

JUHLIN, L. and W.B. SHELLEY : Detection of histamine by a new fluorescent o-phthalaldehyde stain. J.Histochem.Cytochem. 14 (1966) 525-528.

KELLER, R. : Bedeutung der Gewebsmastzelle im Entzündungsvorgang. Med.Klinik 38 (1967) 1453-1457.

LAGUNOFF, D., M. PHILLIPS and E.P. BENDITT : The histochemical demonstration of histamine in mast cells. J.Histochem.Cytochem. 9 (1961) 534-541.

LEHNER, J. : Das Mastzellen-Problem und die Metachromasie-Frage. Ergebn.Anat.Entwickl.-Gesch. XXV (1924) 67-184.

LISON, L.A.J.: Histochimie des mastocytes. In: Histamin and Anti-Histaminics. Springer-Verlag, New York (1966).

LORENZ, W., St. HEITLAND, A. WERLE, E. SCHAUER und H. GASTPAR : Histamin in Speicheldrüsen, Tonsillen und Thymus und adaptive Histaminbildung in der Glandula submaxillaris. Naunyn-Schmiedebergs Arch.exp.Path. Pharmak. 259 (1968) 319-328.

MEYER ZUM GOTTESBERGE, A. und E. KOBURG : Die Tonsille als lymphozytäres Organ. Acta oto-laryng. 63 (1967) 229-237.

MISKOLCZY-FODOR, F. : Über Mastzellen in Tonsillen unter normalen und pathologischen Verhältnissen. Pract.oto-rhino-laryng. (Basel) 12 (1950) 44-56.

MÜSEBECK, K., K.H. BOOZ und W. MOOTZ : Über serotoninhaltige Zellen in der Tonsille des Menschen. Arch.klin.exp.Ohr.-Nas.u.-Kehlk.Heilk. 187 (1966) 773-784.

NIEBAUER, G. : Morphologie, Histologie und Funktion der Blut- und Gewebsmastzellen. Blut 16 (1968) 267-273.

SCHAUER, E. und A. WERLE : Zur histochemischen Darstellung des Histamins der Mastzellen. Z.ges.exp.Med.exp.Chir. 131 (1959) 100-104.

SELYE, H. : The mast cells. Washington, Butterworth & Co. (1965).

SHELLEY, W.B., S. ÖHMAN and M. PARNES : Mastcell stain for histamine in freeze-dried embedded tissue. J.Histochem.Cytochem. 16 (1968) 433-439.

SHORE, P.A., A.BURKHALTER and V.H. COHN : A method for the fluorometric assay of histamine in tissue. J.Pharmacol.exp.Ther. 127 (1959) 182-186.

STÄMMLER, M. : Untersuchungen über Vorkommen und Bedeutung der histiogenen Mastzellen im menschlichen Körper unter normalen und pathologischen Verhältnissen. Frankfurt.Z.Path. XXV (1921) 391-435.

WILCKE, J. : Über den papierchromatographischen Nachweis des Histamingehaltes der Rachenmandel.
Z.Laryng.Rhinol. 48 (1969) 707-710.

Lebenslauf

Am 26. Juli 1936 wurde ich als Sohn der Eheleute Heinz Hübers und Klara Hubers in Klarenthal/Saar geboren. Vom 6. bis zum 11. Lebensjahr besuchte ich die Volksschule in Klarenthal und Duderstadt/Eichsfels, später das Staatliche Realgymnasium in Völklingen, wo ich am 20. März 1957 die Reifeprüfung ablegte.

Das Studium der Zahnmedizin begann ich im Sommersemester 1960 an der Johann Wolfgang Goethe-Universität zu Frankfurt am Main. Die zahnärztliche Vorprüfung legte ich 1963, die zahnärztliche Prüfung 1966 ab.

Die zweijährige Pflichtassistentenzeit absolvierte ich in den Zahnarztpraxen Hager in Quierschied/Saar, Dr. Zuleger in Saarbrücken und in der väterlichen Praxis in Klarenthal. Außerdem war ich in den Strafanstalten in Saarbrücken, Saarlouis und Ottweiler als Zahnarzt tätig. Im Januar 1970 habe ich mich als Zahnarzt in Hanweiler/Saar niedergelassen